

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

DERWENT-ACC-NO: 1993-297781

DERWENT-WEEK: 199338

COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Prepn. of removing agents for stratum corneum horny layer - comprises
extrn. of crape myrtle stem with boiling water, mixing alcohol, casein, and
sulphur@, filtering and removing water

PATENT-ASSIGNEE: NIPPON KIKAKU KAIHATSU KK[NIKJ]

PRIORITY-DATA: 1991JP-0311927 (October 30, 1991)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
--------	----------	----------	-------	----------

JP 05208913 A	August 20, 1993	N/A	006	A61K 035/78
---------------	-----------------	-----	-----	-------------

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO	APPL-DATE
--------	-----------------	---------	-----------

JP05208913A	N/A	1991JP-0311927	October 30, 1991
-------------	-----	----------------	------------------

INT-CL (IPC): A61K035/78; A61K031:045; A61K033:00; A61K033:04;
A61K033:08; A61K035/78; A61K037:02

ABSTRACTED-PUB-NO: JP05208913A

BASIC-ABSTRACT: Prepn. of removing agents for the horny layer (stratum
corneum)

comprises (i) extracting the stem of Lagerstroemia indica (crape myrtle) with
an amt. of boiling pure water, mixing the extract at ambient temps. with an
amt. of alcohol, an amt. of casein, and an amt. of S, and filtering the mixt.
and (ii) mixing the resultant liq. with an amt. of CaO (quicklime) and an amt.
of K oxide.

USE/ADVANTAGE - Agents can soften the horny substance layer and then the
softened layer can esily be removed in a short time by rubbing with a pumice
stone.

In an example, the stem of L. indica (3kg) was boiled with 2l pure water for 2
hrs. to give an extract. This was mixed with alcohol, casein, and S and
filtered twice. The filtrate was mixed with CaO and K2O to prepare a horny
layer remover comprising 40% extract, 10% alcohol, 5% casein, 25% S, 5%
CaO,
and 15% K2O

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

DERWENT-CLASS: B04 D21

CPI-CODES: B04-A07F2; B04-B04A6; B05-A01B; B05-C06; B12-A07;
D08-R09A;

----- KWIC -----

Title - TIX:

Prepn. of removing agents for stratum corneum horny layer - comprises extrn. of crape myrtle stem with boiling water, mixing alcohol, casein, and sulphur@, filtering and removing water

Basic Abstract Text - ABTX:

Prepn. of removing agents for the horny layer (stratum corneum) comprises (i) extracting the stem of Lagerstroemia indica (crape myrtle) with an amt. of boiling pure water, mixing the extract at ambient temps. with an amt. of alcohol, an amt. of casein, and an amt. of S, and filtering the mixt. and (ii) mixing the resultant liq. with an amt. of CaO (quicklime) and an amt. of K oxide.

MACHINE-ASSISTED TRANSLATION (MAT):

(19)【発行国】 日本国特許庁 (J P)	(19)[ISSUING COUNTRY] Japanese Patent Office (JP)
(12)【公報種別】 公開特許公報 (A)	Laid-open (kokai) patent application number (A)
(11)【公開番号】 特開平 7 - 1 2 6 1 4 3	(11)[UNEXAMINEDPATENT NUMBER] Unexamined Japanese Patent No. 7-126143
(43)【公開日】 平成 7 年 (1 9 9 5) 5 月 1 6 日	(43)[DATE OF FIRST PUBLICATION] May 16th, Heisei 7 (1995)
(54)【発明の名称】 化粧品	(54)[TITLE] Cosmetics
(51)【国際特許分類第 6 版】 A61K 7/48 7/00 K X 35/78 ADA C 8217-4C // C12N 9/99	(51)[IPC] A61K 7/48 7/00 K X 35/78 ADA C 8217-4C // C12N 9/99
【審査請求】 未請求	[EXAMINATIONREQUEST] UNREQUESTED
【請求項の数】 1	[NUMBER OF CLAIMS] One
【出願形態】 O L	[Application form] OL
【全頁数】 7	[NUMBER OF PAGES] Seven
(21)【出願番号】 特願平 5 - 2 7 6 9 0 5	(21)[APPLICATIONNUMBER] Japanese Patent Application No. 5-276905
(22)【出願日】 平成 5 年 (1 9 9 3) 1 1 月 5 日	(22)[DATE OF FILING] November 5th, Heisei 5 (1993)
(71)【出願人】	(71)[PATENTEE/ASSIGNEE]

【識別番号】

000166959

[ID CODE]

000166959

【氏名又は名称】

御木本製薬株式会社

Mikimoto Pharmaceutical, Co. Ltd.

【住所又は居所】

三重県伊勢市黒瀬町1425番
地

[ADDRESS]

(71) 【出願人】

(71)[PATENTEE/ASSIGNEE]

【識別番号】

591168323

[ID CODE]

591168323

【氏名又は名称】

難波 恒雄

Tsuneo Nanba

【住所又は居所】

富山県富山市五福末広町255
6-4 1-104

[ADDRESS]

(72) 【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】

難波 恒雄

Tsuneo Nanba

【住所又は居所】

富山県富山市五福末広町255
6-4 1-104

[ADDRESS]

(72) 【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】

服部 征雄

Yukio Hattori

【住所又は居所】

富山県富山市五福末広町255
6-4 2-203

[ADDRESS]

(72) 【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】 下村 健次

Kenji Shimomura

【住所又は居所】

三重県伊勢市船江 3 - 1 6 - 3
2

[ADDRESS]

(72) 【発明者】

(72)[INVENTOR]

【氏名】 中村 雅美

Masami Nakamura

【住所又は居所】

三重県鳥羽市池上町 6 - 3 2

[ADDRESS]

(74) 【代理人】

(74)[PATENT AGENT]

【弁理士】

[PATENT ATTORNEY]

【氏名又は名称】

藤本 博光 (外 2 名)

Hiromitsu Fujimoto (et al.)

(57) 【要約】

(57)[SUMMARY]

【目的】

美白作用が高く、ヒアルロニダーゼの活性を抑制し、且つ肌荒れなどに有効な安全性の高い化粧料を提供する。

[OBJECT]

A skin whitening effect is high and suppresses the activity of a hyaluronidase.

And, high safety cosmetics which is effective in rough skin etc. are provided.

【構成】

オオバナサルスベリ (lagerstroemia speciosa) の溶媒抽出物を含む化粧料。

[SUMMARY OF THE INVENTION]

Cosmetics containing the solvent extract of Lagerstroemia speciosa.

【特許請求の範囲】

[CLAIMS]

【請求項 1】

オオバナサルスベリ (lagerstroemia speciosa) の溶媒抽出物を含む化粧料。

[CLAIM 1]

Cosmetics containing the solvent extract of Lagerstroemia speciosa.

【発明の詳細な説明】

[DETAILED DESCRIPTION OF INVENTION]

【0001】

[0001]

【産業上の利用分野】

本発明は、美白作用が高く、ヒアルロニダーゼの活性を阻害し、且つ肌荒れなどに有効な安全性の高い化粧品に関する。

[INDUSTRIAL APPLICATION]

This invention of a skin whitening effect is high, and inhibits the activity of a hyaluronidase.

And it is related with the effective high safety cosmetics in rough skin etc.

【0002】

[0002]

【従来の技術】

オオバナサルスベリ (*lagerstroemia speciosa*) は、ミソハギ科サルスベリ属の植物でインドに生える半落葉高木である。このオオバナサルスベリの根は、下痢に、樹皮、葉は下剤として利用されている。

[PRIOR ART]

Lagerstroemia speciosa is a hemideciduous tall tree, plant of Lythraceae *Lagerstroemia* which grows in India.

The root of this *Lagerstroemia speciosa* are utilized for diarrhea and its bark and the leaf as a laxative.

【0003】

[0003]

一方、化粧料の原料として使用できる美白作用のある物質としては、種々の物質が知られているが、合成品は、長期間人間の肌に適用した場合の安全性の保証がなく、使用が制限されつつある。他方、天然物では美白作用が弱いものが多い。しかし、人の肌に対する安全性の面から天然物で、多年、人が食したりして、安全性の面で保証されており、しかも美白作用が強く、更に皮膚に対する他の効果も合わせもつ物質が望まれていた。

The various substance is known as a substance which, on the other hand, has a skin whitening effect which can use cosmetics as a raw material.

However, synthetic goods do not have a guarantee of the safety at the time of applying to the human skin for a long period of time, and use is being limited.

On the other hand, there are many things have a weak skin whitening effect in natural products.

However, it is a natural product, and when seeing from safety point of view to the people's skin, many years people eat and it is guaranteed in the viewpoint of safety.

And a skin whitening effect is strong and the substance which also combines and has the other effect to the skin further was desired.

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、皮膚に適用して安全であると共に、美白作用が大きく且つヒアルロニダーゼの活性を阻害し、更に肌荒れなどに有効な成分を含んだ化粧料を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、前記の課題を解決するために、すでに多年にわたって食用に供され、人体に対する安全性が確認されている植物をスクリーニングして調べ、化粧料として利用価値のあるものを検討した。その結果、オオバナサルスベリが化粧品原料として、或いは医薬部外品としての有効性を有することを見い出して本発明を完成するに至ったのである。すなわち、本発明は、オオバナサルスベリ (*lagerstroemia speciosa*) の溶媒抽出物を含む化粧料である。

【0006】

【作用】

本発明の化粧料として用いられるオオバナサルスベリの溶媒抽出物の確認された作用は、第1に肌の美白作用、第2にヒアルロニダーゼの活性抑制作用、第3に活性酸素抑制作用、第4に抗酸化作用である。上記第2の

[0004]

[PROBLEM ADDRESSED]

While the objective of the invention applies and is safe for the skin, a skin whitening effect is strong and inhibits the activity of a hyaluronidase.

Furthermore it is in providing the cosmetics containing the effective component in rough skin etc.

[0005]

[SOLUTION OF THE INVENTION]

In order that the present inventors might solve an above-mentioned subject, he was already used for by the edible use for many years, screened and investigated the plant with which the safety to a human body is confirmed, and examined that which has use value as cosmetics.

It came to find out that *Lagerstroemia speciosa*, as a result, has the effectiveness as a quasi-drug as a cosmetics raw material, and to complete this invention.

That is, this invention is the cosmetics containing the solvent extract of *Lagerstroemia speciosa*.

[0006]

[EFFECT]

An effect by which the solvent extract of *Lagerstroemia speciosa* used as cosmetics of this invention was confirmed is a skin whitening effect of the skin first. Secondly it is the activity inhibitory effect of a hyaluronidase. 3rd it is an active oxygen inhibitory effect. 4th it is the anti-oxidation.

It explains more in detail about the activity

ヒアルロニダーゼの活性抑制作用について更に詳しく説明する。ヒアルロニダーゼは、生体中に広く分布し、皮膚にも存在する酵素であり、その名のとおりヒアルロン酸を分解する。ヒアルロン酸は、 β -D-N-アセチルグルコサミンと β -D-グルクロン酸が交互に結合した直鎖状の高分子多糖で、コンドロイチン硫酸などとともに哺乳動物の結合組織に広く存在するグリコサミノグルカンの一種である。結合組織内でのヒアルロン酸の作用としては、細胞間隙に水分を保持し、また組織内にゼリー状のマトリックスを形成して細胞を保持したり、皮膚の潤滑性と柔軟性を保ち、外力（機械的障害）および細菌感染を防止していると考えられている。また、皮膚のヒアルロン酸は齢をとるにつれて減少し、その結果小ジワやかさつきなどの老化をもたらすといわれている。従って、このヒアルロン酸を分解するヒアルロニダーゼの活性を抑制することは、製剤に使用されているヒアルロン酸の安定性や、皮膚に塗布した後の製剤のヒアルロン酸及び皮膚に存在していたヒアルロン酸の安定に寄与すると考えられる。

【0007】

また、上記第3の活性酸素抑制作用について更に詳しく説明する。一般に、空気中に酸素がないと生物（嫌気性のものを除く）は存在しえない。しかし、酸素は紫外線や酵素等の影響を受けて活性酸素になる。この活性酸

inhibitory effect of an above 2nd hyaluronidase. A hyaluronidase is widely distributed in a living body.

It is the enzyme which is present also in the skin.

A hyaluronic acid is decomposed as the name.

Hyaluronic acid is straight-chain polymeric polysaccharide bonded alternately (beta)-D-N-acetyl glucosamine and (beta)-D-glucuronic acid, and one type of glucosaminoglycan which exists in the connective tissue in mammals widely with a chondroitin sulfuric acid etc.

As an effect of the hyaluronic acid in a connective tissue, water content is held in intercellular space.

Moreover a jelly-like matrix is formed in a tissue and a cell is held.

Moreover, the lubricity and a softness of the skin are maintained.

It is considered that external force (mechanical damage) and the bacterial infection are prevented.

Moreover, the hyaluronic acid of the skin is reduced as getting old.

As a result, it is said that ageing of a small wrinkle, a roughness, etc. is brought.

Therefore, inhibiting the activity of the hyaluronidase which decomposes this hyaluronic acid brings the stability of the hyaluronic acid used for the formulation. It is considered that it contributes to the stability of the hyaluronic acid which existed in the hyaluronic acid and the skin of a formulation after applying to the skin.

[0007]

Moreover, it explains more in detail about an above third active oxygen inhibitory effect. This may exist.

Generally, when there is no oxygen in air, living things (except anaerobic organisms) cannot exist.

However, oxygen turns into an active oxygen in response to the influence of ultraviolet rays,

素は、脂肪酸を酸化し過酸化物を生成させる。生体の生体膜のリン脂質も酸化させ、障害を与える。その上、生成した過酸化物と活性酸素はDNAに損傷を与え、老化を促進するといわれている。この活性酸素は、チロシンからメラニンを作る機構にも影響を与え皮膚の黒化にも関与している。この活性酸素を抑制することは皮膚にとって重要な、言い換えれば化粧品に求められる重要な要素である。

【0008】

オオバナサルズベリの利用方法としては、水或いは親水性有機溶媒、例えば、エタノール、メタノール、アセトン等で抽出する。しかしながら、化粧品原料の抽出であるから、水、或いはエタノール又はこれらの混合溶媒での抽出が好ましいのは当然である。また、場合によっては、グリセリン、1, 3-ブチレングリコール、プロピレングリコール等の多価アルコール又は多価アルコールと水の混液も抽出に利用できる。さらにまた、凍結乾燥して粉体として利用することも利用方法によっては有効である。

【0009】

この物質を他の化粧品原料、例えば、スクワラン、ホホバ油等の液状油、ミツロウ、セチルアルコール等の固体油、各種の活性剤、グリセリン、1, 3-ブチレングリコール等の保湿剤や各種薬剤等を配合して様々な剤

an enzyme, etc.

A fatty acid is oxidized, and a peroxide is made to form, phospholipid of the biomembrane of a living body is also oxidized, and this active oxygen does damage.

Moreover the peroxide and the active oxygen which were formed do damage to DNA, and are said that it accelerates ageing.

This active oxygen also affects the mechanism which makes melanin from a tyrosine, and is concerning also in the blackening of the skin.

It is an element important for the skin to inhibit this active oxygen. In other words, it is the important element for which cosmetics are required.

[0008]

As the use method of Lagerstroemia speciosa, water or a hydrophilic organic solvent, for example, ethanol, methanol, acetone, etc. extract.

However, since it is extracting of a cosmetics raw material, naturally, extracting with water, ethanol, or these mixed solvents is desirable.

Moreover, by the case, the mixed liquid of polyalcohols, such as glycerol, 1,3- butylene glycol, and a propylene glycol, or a polyalcohol, and water can also be utilized for extraction.

Furthermore it is also effective to freeze-dry and to utilize as a powder also, by the use method.

[0009]

It is this substance liquid oil, such as the other cosmetics raw material, for example, squalane, and a jojoba oil. Solid oil, such as beeswax and cetyl alcohol, various activators, Moisturisers, such as glycerol, 1,3-butylene glycol. Various kinds of chemical agents etc. The above can be compounded and various cosmetics of a formulation, for example, lotion, cream, a milky

形の化粧料、例えば、ローション、クリーム、乳液、パック等、目的に応じて種々の利用形態の化粧料などに調製することができる。

lotion, a pack, etc. can be prepared to the cosmetics of various use form etc. depending on the objective.

[0010]**[0010]****【実施例】**

以下に、本発明で使用するオオバナサルスベリの抽出物の製造例、実際の利用方法である実施例を記載するが、本発明はこれらの製造例及び実施例によって何ら限定されるものではない。

[Example]

The manufacture example of the extract of *Lagerstroemia speciosa* used for below with this invention and the Example which is the actual use method are described.

However, this invention is not limited by these manufacture examples and Examples at all.

[0011]**[0011]****【製造例1】**

オオバナサルスベリの葉（乾燥品）10gにエタノール300mlを加えて時々攪拌しつつ5日間放置した。これを濾過後凍結乾燥した。

[Manufacture example 1]

It was left for 5 days, having added ethanol 300 ml to 10g (dry product) of the leaves of *Lagerstroemia speciosa*, and stirring sometimes.

It freeze-dried after filtering this.

[0012]**[0012]****【製造例2】**

オオバナサルスベリの葉（乾燥品）10gに50%エタノール水溶液300mlを加えて時々攪拌しつつ5日間放置した。これを濾過後凍結乾燥した。

[Manufacture example 2]

10g (dry product) of the leaves of *Lagerstroemia speciosa* It was left for 5 days, having added 300 ml of ethanol aqueous solution to this 50%, and stirring sometimes.

It freeze-dried after filtering this.

[0013]**[0013]****【製造例3】**

オオバナサルスベリの葉（乾燥品）10gに精製水300ml

[Manufacture example 3]

10g (dry product) of the leaves of *Lagerstroemia speciosa* 300 ml of purified waters is added to this, and it heats for 3 hours.

を加えて3時間加熱する。これを放冷した後濾過後凍結乾燥した。

After cooling this, it freeze-dried after filtration.

【0014】

[0014]

【実施例1 (ローションの調製)】

下記の諸成分を混合して、常法によりローションを調製した。

(重量%)

オ リ ー ブ 油
 0.5
 製造例1のオオバナサルス
 ベリのエタノール抽出物
 0.5
 ポリオキシエチレン
 (20E.O.)ソルビタンモノステア
 レート 2.0
 ポリオキシエチレン
 (60E.O.)硬化ヒマシ油
 2.0
 エ タ ノ ー ル
 10.0
 1.0%ヒアルロン酸ナト
 リ ウ ム 水 溶 液
 5.0
 精 製 水
 80.0

【Example 1 (preparation of a lotion)】

The following various components were mixed and the lotion was prepared by the conventional method.

(Weight %)

Olive oil 0.5
 Ethanol extract of Lagerstroemia speciosa of a manufacture example 1 0.5
 Polyoxyethylene (20E.O.) sorbitan monostearate 2.0
 Poxoxyethylene (60E.O.) hardening castor oil 2.0
 Ethanol 10.0
 1.0% hyaluronic acid sodium aqueous solution 5.0
 Purified water 80.0

【0015】

[0015]

【実施例2 (クリーム調製)】

下記諸成分からなるAとBとをそれぞれ70℃まで加温し、次いで、BにAを攪拌しつつ徐々に加えた後、ゆっくりと攪拌しつつ30℃まで冷却してクリームを調製した。

【Example 2 (preparation of cream)】

The heating of A and B which consist of following various components was respectively carried out to 70 degree C.

Subsequently, stirring slowly, after adding gradually, stirring A to B, it cooled to 30 degree C and cream was prepared.

(Weight %)

(重量%)		A	Squalane	20.0
A	ス ク ワ ラ ン	20.0	Olive oil	2.0
			Mink oil	1.0
オ リ ー ブ 油			Jojoba oil	5.0
			Beeswax	5.0
2.0			Cetostearyl alcohol	2.0
ミ ン ク 油			Glycerol mono stearate	1.0
			Sorbitan mono stearate	2.0
1.0			50% ethanol extract of Lagerstroemia speciosa	
ホ ホ バ 油			of a manufacture example 2	
5.0			B Purified water	47.9
ミ ツ ロ ウ			Polyoxyethylene (20E.O.) sorbitan mono	
			stearate	2.0
5.0			Polyoxyethylene (60E.O.) hardening castor oil	
セトステアリルアルコール				1.0
2.0			Glycerol	5.0
グリセリンモノステアレー			1.0% hyaluronic acid sodium aqueous solution	
ト				5.0
1.0			Paraoxy methyl benzoate	0.1
ソルビタンモノステアレー				
ト				
2.0				
製造例 2 のオオバナサル				
ベリの 50% エタノール抽出物				
1.0				
B	精 製 水			
47.9				
ポリオキシエチレン				
(20E.O.)ソルビタンモノステア				
レート				
		2.0		
ポリオキシエチレン				
(60E.O.) 硬化ヒマシ油				
1.0				
グ リ セ リ ン				
5.0				
1.0% ヒアルロン酸ナト				
リ ウ ム 水 溶 液				
5.0				
パラオキシ安息香酸メチル				
0.1				

【0016】

[0016]

【実施例 3 (ローションの調製)】
 実施例 1 において製造例 1 の抽出物を製造例 3 の抽出物に変えて調製した。

【0017】

【チロシナーゼ活性阻害】
 (試験方法) マックルバルン (McIlvaln) 緩衝液 0.9 ml、1.66 mM チロシン (Tyrosine) 溶液 1.0 ml、前記製造例 (凍結乾燥品) の 0.1 wt/v% 水溶液 (溶解しにくい場合はエタノールを加えて溶解したのち精製水を加えて、エバポレートし、エタノール除去したのち、0.1 wt/v% になるように調製した) 1.0 ml をスクリーバイアルにとり、37℃恒温水槽中で 5 分以上加温した。チロシナーゼ溶液 (Sigma 社製、マッシュルーム由来、914 ユニット/ml) 0.1 ml を加え、37℃恒温水槽中で保温し、10 分後に 475 nm で吸光度を測定した。対照として、上記試料液のかわりに純水を加え同様に測定した。この試験では試料の終濃度は 0.033% となる。
 (計算式)
 チロシナーゼ活性阻害率 (%)

$$= \{B - (A - P)\} / B \times 100$$

 ただし、A : 試料検体の吸光度
 B : 対照の吸光度
 P : 試料検体の着色による吸光度 (3 倍希釈)

【0018】

【Example 3 (preparation of a lotion)】

In Example 1, the extract of a manufacture example 1 was changed into the extract of a manufacture example 3, and was prepared.

【0017】

【Tyrosinase activity inhibition】

(Test method) 0.9 ml of McIlvaln buffer, 1.1.0 ml of 66 mM tyrosine solution, 0.1 wt.v% aqueous solution of an above-mentioned manufacture example (lyophilised product) 1.0 ml (When being hard to dissolve, After adding, evaporating and carrying out the ethanol removal of the purified water after adding and dissolving an ethanol, it prepared so that it might become 0.1 wt.v%)

The above was taken to the screw vial and it heated 5 minutes or more in the 37 degree C constant temperature bath.

0.1 ml (made by Sigma company, the derived from a mushroom, 914 units, ml) of tyrosinase solutions was added, and it retain heated in the 37 degree C constant temperature bath.

Absorbance was measured by 475 nm after 10 minutes.

As a control, the pure water was added instead of the above sample liquid, and it measured similarly.

In this test, final concentration of a sample makes 0.033%.

(Formula)

Tyrosinase activity inhibition rate (%) = $\{B - (A - P)\} / B \times 100$

A: Absorbance of a sample test substance

B: Absorbance of comparison

P: Absorbance by colouring of a sample test substance (3 times dilution)

【0018】

【表 1】

[Table 1]

検 体	チロシナーゼ活性阻害率 (%)
製造例 1	29.0

Test substance Tyrosinase activity inhibitory rate (%)

Manufacture Example 1 29.0

【0019】

[0019]

【ヒアルロニダーゼ活性抑制試験】

(試験方法) 0.4% ヒアルロン酸ナトリウム 0.1M (pH 6.0) リン酸緩衝溶液 6g を計量し、37℃の恒温水槽で5分間放置した後、前記製造例(凍結乾燥品)の0.1 wt/v%水溶液(溶解しにくい場合はエタノールを加えて溶解したのち精製水を加えて、エバポレートし、エタノール除去したのち、0.1 wt/v%になるように調製した) 1.0 ml を加え攪拌し、0.01% ヒアルロニダーゼ (シグマ社製 牛睾丸製、タイプ I-S) 0.1M (pH 6.0) リン酸緩衝液を 1 ml 加えて直ちに攪拌し、6 ml を 37℃の恒温水槽に入れたオストワルド粘度計に入れた。これを1分後、5分後、

[Hyaluronidase activity inhibition test]

(Test method) 6g of hyaluronic acid sodium 0.1M (pH6.0) phosphoric acid buffer solutions was measured 0.4%.

After leaving 5 minutes by the 37-degree C constant temperature bath, 1.0 ml of 0.1 wt.v% aqueous solution of an above-mentioned manufacture example (lyophilised product) was added and stirred. When being hard to dissolve, after adding, evaporating and carrying out the ethanol removal of the purified water after adding and dissolving an ethanol, it prepared so that it might become 0.1 wt.v%.

1 ml of 0.01% hyaluronidase (made by Sigma company bovine testis, type I-S) 0.1M (pH6.0) phosphoric acid buffer is added, and it is stirred immediately.

6 ml was put into the Ostwald viscometer put into the 37-degree C constant temperature bath.

Viscosity was measured this after 1 minute, 5 minutes, 10 minutes, 20 minutes, and 40 minutes.

10分後、20分後、40分後に粘度を測定した。対照として、上記試料液の代わりに純水を加え同様にして測定した。この試験では試料の終濃度は、それぞれ検体の濃度の0.0125%となる。1分後の粘度を100として、それぞれの結果を指数で下記表2～表4に示す。

As a control, the pure water was added instead of the above sample liquid, and it measured similarly.

In this test, final concentration of a sample respectively makes 0.0125% of the concentration of a test substance.

Each result is shown in following Table 2 - 4 as indexes, setting viscosity after 1 minute as 100.

【0020】

[0020]

【表2】

[Table 2]

検 体	5分後	10分後	20分後	40分後
対 照	62.5	44.6	29.6	19.6
製造例1	99.2	99.2	99.0	99.0

Test substance	5 mins after	10 mins after	20 mins after	40 mins after
Control	62.5	44.6	29.6	19.6
Manufacture Example 1	99.2	99.2	99.0	99.0

【0021】

[0021]

【表3】

[Table 3]

検 体	5 分後	1 0 分後	2 0 分後	4 0 分後
対 照	7 1 . 2	5 2 . 3	3 5 . 0	2 2 . 0
製造例 2	9 9 . 6	9 9 . 5	9 9 . 7	9 9 . 6

Test substance 5 mins after 10 mins after 20 mins after 40 mins after

Control 71.2 52.3 35.9 22.0

Manufacture

Example 2 99.6 99.5 99.7 99.6

【 0 0 2 2 】

【0022】

【表 4】

[Table 4]

検 体	5 分後	1 0 分後	2 0 分後	4 0 分後
対 照	8 0 . 0	6 4 . 8	4 7 . 3	3 1 . 6
製造例 3	9 9 . 4	9 9 . 7	9 9 . 6	9 9 . 7

Test substance 5 mins after 10 mins after 20 mins after 40 mins after

Control 80.0 64.8 47.3 31.6

Manufacture

Example 3 99.4 99.7 99.6 99.7

【0023】

【活性酸素抑制試験】

活性酸素を抑制する効果を測定する方法は各種あるが、今回以下の方法を利用した。

pH7.8 50mM リン酸カリウム緩衝液 (1.3mM DETAPAC 含有) 133ml

40 unit/ml カタラーゼの上記のリン酸カリウム緩衝液 5ml

2mM ニトロブルーテトラゾリウムの上記のリン酸カリウム緩衝液 5ml

1.8mM キサンチンの上記のリン酸カリウム緩衝液 17ml

160ml

【0024】

上記の試薬の混合物を 2.4ml、検体を 0.3ml 加えてキサンチンオキシナーゼ（予め検体を水とし、実験するとき、吸光度が1分当たり 0.02 前後上昇するように上記のリン酸カリウム緩衝液で調整しておく）液を 0.1ml 加えて直ちに吸光度（560nm）を測定する（測定は2分位し、直線性を確認する）。

(計算式)

阻害率 = $\{(A-B)/A\} \times 100$

ただし、A：検体を水としたときの1分当たりの吸光度の変化
 B：検体の1分当たりの吸光度の変化

濃度段階を数段階行い、50% 活性酸素生成阻害濃度を探し

[0023]

[Active oxygen inhibition test]

Although the method of measuring the effect which inhibits an active oxygen had various kinds, it utilized the following method this time.

pH7.8 50 mM potassium phosphate buffer (1.3 mM DETAPAC containing) 133 ml

40 units/ml Above mentioned potassium phosphate buffer of catalase 5 ml

Above mentioned potassium phosphate buffer of 2 mM nitro blue tetrazolium 5 ml

1. Above mentioned potassium phosphate buffer of 8 mM xanthin 17 ml
 160 ml

[0024]

2.4 ml and 0.3 ml of test substances are added the mixture of an above-mentioned reagent, 0.1 ml of xanthin oxygenase liquids is added, and absorbance (560 nm) is measured immediately. Make a test substance be water previously.

When experimenting, it adjusts by above-mentioned potassium phosphate buffer so that absorbance may rise 0.02 order per minute. The place of the measurement is carried out for 2 minutes, and a linearity is confirmed.

(Formula)

Inhibition rate = $\{(A-B)/A\} \times 100$

A: A variation of the absorbance per minute when setting a test substance as water

B: A variation of the absorbance per minute of a test substance

Several steps story deed and 50% active oxygen formation inhibitory concentration were looked for the concentration step.

The production method of a test substance prepared the above-mentioned manufacture

た。検体の作成方法は前記製造例（凍結乾燥品）を適当な濃度の水溶液を調製（溶解しにくい場合はエタノールを加えて溶解したのち精製水を加えて、エバポレートし、エタノールを除去したのち適当な濃度%となるように調製）した。

example (lyophilised product) aqueous solution of suitable concentration. When it is hard to dissolve, after having added and evaporated the purified water after adding and dissolving an ethanol, and removing an ethanol, it prepared so that it might become suitable concentration %.

【0025】

[0025]

【表5】

[Table 5]

検 体	50%活性酸素生成阻害濃度（終濃度%）
製造例1	0.00030
製造例2	0.00010
製造例3	0.00009

Test substance 50% active oxygen production inhibitory concentration (final concentration %)

Manufacture Example 1 0.00030

Manufacture Example 2 0.00010

Manufacture Example 3 0.00009

【0026】

[0026]

【抗酸化試験】

[Anti-oxidation test]

The following 50 ml test tube with a screw cap

下記のネジキャップ付 50 ml
試験管を作製した。

検 体
5 ml

2% リノール酸エタノール溶液
10 ml

0.1 M、pH 7.0 リン酸緩
衝液 10 ml

精 製 水
5 ml

このネジキャップ付 50 ml 試験管を 50°C の恒温槽に遮光して放置する。これを恒温槽に入れる前、4 日後、7 日後、11 日後に下記の測定をした。試験液 0.125 ml、75% エタノール 12.125 ml、30% チオシアン酸アンモニウム 0.125 ml を加えて攪拌し 3 分間放置後、0.02 N 塩化第一鉄 3.5% HCL 水溶液 0.125 ml を加えて攪拌し 3 分間放置後、500 nm で吸光度を測定した。セル長 10 mm、対照セルは試験液を水に置き換えたもの。

was produced.

Test substance 5 ml

2% linoleic acid ethanol solution 10 ml

0.1M, pH7.0 phosphoric acid buffer 10 ml

Purified water 5 ml

This 50 ml test tube with a screw cap was shaded and left in, 50-degree C thermostat.

Before putting this into a thermostat, the following measurement was carried out after (4 days, 7 days, and 11 days).

Test solution 0.125 ml, 75% ethanol 12.125 ml, 30% ammonium thiocyanate 0.125 ml The above is added and stirred and 3 minutes is left. Then, 0.02N ferrous chloride 3.5% HCL aqueous solution 0.125 ml was added and stirred, and 3 minutes was left. Then, 500 nm absorbance was measured.

10 mm of cell length and a reference cell are those which displaced the test solution to water.

【0027】

[0027]

【表 6】

[Table 6]

検 体	0日後	4日後	7日後	11日後
水	0. 0 2 5	0. 1 3 7	0. 5 9 0	1. 0 1 8
製造例 1	0. 0 4 4	0. 0 7 1	0. 1 0 3	0. 1 1 3
製造例 3	0. 0 2 4	0. 0 6 0	0. 0 7 0	0. 0 8 4
リケンオイル700*1	0. 0 2 7	0. 0 8 4	0. 1 6 2	0. 3 0 5
BHT	0. 0 2 3	0. 0 4 2	0. 0 4 1	0. 0 4 8

*1 : 理研ビタミン株式会社製

Test substance	0 day after	4 days after	7days after	11 days after
Water	0.025	0.137	0.590	1.018
Manufacture Example 1	0.044	0.071	0.103	0.113
Manufacture Example 3	0.024	0.060	0.070	0.084
Riken E oil 700 *1	0.027	0.084	0.162	0.305
BHT	0.023	0.042	0.041	0.048

*1: Made by Riken Vitamin K.K.

【 0 0 2 8 】

[0028]

【表 7】

[Table 7]

検 体	0 日後	4 日後	6 日後	8 日後
水	0. 0 2 1	0. 1 2 3	0. 4 0 6	0. 9 5 3
製造例 2	0. 0 1 4	0. 0 6 3	0. 0 7 7	0. 0 8 2
リケンオイル700* 1	0. 0 1 8	0. 0 7 9	0. 1 3 2	0. 1 9 2
B H T	0. 0 1 7	0. 0 3 0	0. 0 3 3	0. 0 3 3

* 1 : 理研ビタミン株式会社製

Test substance	0 day after	4 days after	7days after	11 days after
Water	0.021	0.123	0.406	0.953
Manufacture Example 2	0.014	0.063	0.077	0.082
Riken E oil 700 *1	0.018	0.079	0.132	0.192
BHT	0.017	0.030	0.033	0.033

*1: Made by Riken Vitamin K.K.

【0 0 2 9】

(使用テスト) 女性 6 名の顔面を左右に分け、一方に、実施例のローションとクリームをセットにして、他方には比較例のローションとクリームをセットにして毎日、1 回以上使用しても

[0029]

(Use test) The six female's face is divided into right and left.

To one direction, the lotion and cream of an Example are made to a set.

The lotion and cream of Comparative Example are made to a set and used for another side 1 time or more every day.

らって、3カ月後に、美白、肌荒れ防止、肌のつや及び肌のはりについて評価した。なお、比較例は実施例より製造例の各種のオオバナサルスベリの抽出物を水に代えたものである（比較例1、2）。なお、12名を2班にわけ、下記表8に示される試料を使って試験した。

3 months after, it was evaluated about skin whitening, rough skin prevention, skin glossiness and skin tension.

In addition, Comparative Example replaces with water from an Example the extract of the various Lagerstroemia speciosa of a manufacture example (Comparative Example 1 and 2).

In addition, 12 persons are divided into 2 groups.

It examined using the sample shown in the following table 8.

【0030】

[0030]

【表8】

[Table 8]

試験No.	使用した試料
1	実施例1、2 比較例1、2
2	実施例3、2 比較例1、2

Test No.

Used test sample

1	Example 1, 2	Comparative Example 1, 2
2	Example 3, 2	Comparative Example 1, 2

【0031】

[0031]

評価は、下記の評価基準により評価し、その結果をまとめたのが下記の表9である。

The following evaluation criteria evaluate evaluation.

The following table 9 collected the result.

(Evaluation criteria)

(評価基準)

実施例の方が非常によい
3

The Example is very fine.

3

The Example is quite fine.

2

The Example is a little fine.

1

実施例の方がかなりよい	There is no difference.	0
2	Comparative Example is a little fine.	-1
実施例の方がややよい	Comparative Example is quite fine.	-2
1	Comparative Example is very fine.	-3
差がな		
0		
比較例の方がややよい	—	
1		
比較例の方がかなりよい	—	
2		
比較例の方が非常によい	—	
3		

【0032】

[0032]

【表9】

[Table 9]

試験結果	美白	肌荒れ防止	肌のつや	肌のはり
試験No.1	11	11	8	8
試験No.2	5	10	8	9

Test result	Skin whitening	Preventing skin roughness	Skin glossiness	Skin tension
Test No.1	11	11	8	8
Test No.2	5	10	8	9

【0033】

[0033]

上記チロシナーゼの活性抑制試験結果（表1）、ヒアルロニダーゼ活性抑制試験結果（表2～表4）、活性酸素抑制試験結果（表5）、抗酸化試験（表6及び表

The activity inhibition test result of the above tyrosinase (Table 1), Hyaluronidase activity inhibition test result (Table 2 - 4), Active oxygen inhibition test result (Table 5), Anti-oxidation test (Table 6 and 7), Use test (Table 9) The cosmetics which contain clearly the solvent

7)、使用テスト(表9)から明らかのように、本発明のオオバナサルズベリの溶媒抽出物を含む化粧料は、チロシナーゼの活性、ヒアルロニダーゼの活性及び活性酸素を抑制し、美白、肌荒れ防止、肌のつや及び肌のほりに有効なことが判った。

【0034】

【発明の効果】

本発明によれば、美白作用が高く、ヒアルロニダーゼの活性を抑制し、且つ肌荒れなどに有効な安全性の高い化粧料が提供される。

extract of Lagerstroemia speciosa of this invention from these inhibit the activity of the tyrosinase, the activity of a hyaluronidase, and an active oxygen.

It was found that the gloss and the skin tension of a skin whitening, rough skin prevention, and the skin are an effectiveness.

[0034]

[EFFECT OF THE INVENTION]

According to this invention, a skin whitening effect is high, and the activity of a hyaluronidase is inhibited and the effective high safety cosmetics in rough skin etc. are provided.
